

## HRP 法によるネコ唾液核の同定\*

里見 肇 伊勢ひろみ 高橋 杏三

札幌医科大学解剖学第1講座 (主任 高橋杏三教授)

山 本 悌 司\*\*

金沢医科大学神経内科学教室 (主任 広瀬源二郎助教授)

### Identification of the Salivatory Nuclei in the Cat as Studied by the Horseradish Peroxidase Method

Hajime SATOMI, Hiromi ISE and Kyoza TAKAHASHI

*Department of Anatomy (Section 1), Sapporo Medical College*

(Chief: Prof. K. Takahashi)

Teiji YAMAMOTO

*Section of Neurology, Kanazawa Medical University*

(Chief: Assoc. Prof. G. Hirose)

The localizations of the inferior and superior salivatory nuclei that give rise to parasympathetic fibers to the parotid, submandibular and sublingual glands were identified in cats by means of the horseradish peroxidase method.

The inferior salivatory nucleus exists in the dorsal part of the reticular formation in the medulla oblongata. Although the superior salivatory nucleus has been said to exist in the pons, the nucleus demonstrated in this study does not exist in the pons but does exist in the dorsal part of the reticular formation of the rostral medulla oblongata. Neurons of the salivatory nuclei were medium-sized and multipolar with densely stained Nissl substance.

(Received June 29, 1979 and accepted July 23, 1979)

## 1 緒 言

耳下腺の分泌は耳神経節を介する舌咽神経によって支配され、その副交感神経節前線維の起始は延髄網様体 (medullary reticular formation) 内の下唾液核にあると考えられている<sup>1,2)</sup>。また顎下腺と舌下腺の分泌は顎下神経節を介し、涙腺および鼻腔の小唾液腺の分泌は翼口蓋神経節を介する中間顔面神経によって支配され、その副交感神経節前線維の起始は橋網様体 (pontine reticular formation) 内の上唾液核にあると考えられている<sup>1,2)</sup>。しかし唾液腺の神経支配に関する報告は大部分が機能的局面からみた生理学的検索であり<sup>3~6)</sup>、その支配中枢を形態学的に同定した報告は少なく<sup>7~11)</sup>、唾液核の局在についてはまだ明確にされてはいない。それは従来の逆行性神経細胞変性法における変性神経細胞の同定の困難性に起因するものと考えられる。そこで著者らは、自律神経路の追跡のため有力な方

法として利用されている horseradish peroxidase (HRP) 法<sup>12)</sup>を用いて、ネコの唾液核および上唾液核の同定を試み、その結果の一部はすでに略報したが<sup>13,14)</sup>、ここではさらに詳しく唾液核の局在についてまとめて報告する。

## 2 実験材料と方法

本実験のために体重1.5~3.5 kgのネコ25匹(雌雄をとわず)を使用した。手術のための麻酔には sodium pentobarbital (Nembutal) による腹腔内麻酔 (35 mg/kg) を施した。このうち9匹は、脳定位固定装置に固定したのち、下唾液核の同定のため後頭蓋窩開頭により延髄を露出し、硬膜を切除後、手術顕微鏡下で頭蓋内に舌咽神経根を同定した。次に舌咽神経を切断後、その近位切断端を小さなゴム袋内に満たした20% HRP液(東洋紡 Grade I-C)に直接浸漬した。また上唾液核の同定には16匹を使用し、茎乳突孔より骨質を削り、手術顕微鏡下に中間顔面神経

\* 本論文の要旨は第83, 84回日本解剖学会総会(宇部1978, 東京1979)で発表した。

\*\* 本研究の主要部分は、山本が札幌医科大学解剖学第1講座に在職中になされたものである。

(11 匹) または鼓索神経 (5 匹) を同定した。次に中間顔面神経または鼓索神経を切断後、その近位切断端を前述と同様に 20% HRP 液に直接浸漬した。このように末梢神経の切断端を直接 HRP 液に浸す方法は著者らが新たに開発した手技で<sup>15)</sup>、周辺組織に HRP 液が拡散することなく、かつ長時間にわたり HRP の取り込みが行なわれるため、より正確に強くラベルされた神経細胞を観察することができる。2 日後、脳を 2% paraformaldehyde および 0.5% glutaraldehyde 磷酸緩衝液 (pH 7.3, 4°C) で灌流固定し、脳幹部を摘出後 20% 蔗糖加磷酸緩衝液中で保存した。翌日、延髄および橋を脳幹の長軸に対して直角に 60  $\mu\text{m}$  の凍結横断切片とした。切片を恒温振盪器内で diaminobenzidine<sup>16)</sup> または tetramethylbenzidine<sup>17)</sup> で 20~40 分間反応させた後、ゲラチン被覆を施したスライドガラス上に貼布し、cresyl violet あるいは neutral red で淡染色した。脱水後 Permount (Fischer Scientific Co.) で封入した。観察には明視野および暗視野顕微鏡を用い、写真撮影を行なうとともに、HRP 陽性細胞を描写投影器により作製した脳マップにプロットした。

### 3 成績

#### 3.1 下唾液核の同定

舌咽神経根に HRP 液を浸した例では、HRP 反応顆粒を胞体内にもつ陽性細胞は、迷走神経背側運動核の吻側端のレベルから腹側蝸牛神経核の尾側のレベルまでにわたり延髄網様体の背側部に認められた (Fig. 2)。HRP 陽性細胞の最尾側のものはおよそ迷走神経背側運動核の吻側端のレベルにあり、孤束よりも腹内側の部分、すなわち延髄網様体の背側端に認められた (Fig. 2a)。これらの陽性細胞は迷走神経背側運動核の細胞にくらべて若干小さく、直径が約 15~25  $\mu\text{m}$  でニッスル染色に濃染する多極神経細胞群として認められた。また網様体背側部における陽性細胞とともに、舌咽神経を介して茎突咽頭筋および上咽頭収縮筋を支配する疑核においても多くの陽性細胞が観察された (Fig. 4 B)。疑核におけるこれらの陽性細胞は樹状突起の発達が著しい多極神経細胞であるが、網様体背側部における陽性細胞よりもやや大きく、直径は約 25~30  $\mu\text{m}$  である。延髄網様体背側部での陽性細胞は疑核が消失するレベルよりもさらに吻側においても認められるが、疑核の最吻側に相当するレベルでその数が最大となり、延髄網様体の背側端に集団をなして認められた (Figs. 2 d, 4 A)。陽性細胞はさらに吻側に向かうにしたがい次第に外側に移行し、最吻側のレベル、すなわち孤束および疑核が消失し、腹側蝸牛神経核の尾側のレベルでは、延髄網様体の若干深部に比較的散在性に認められた (Fig. 2 f)。

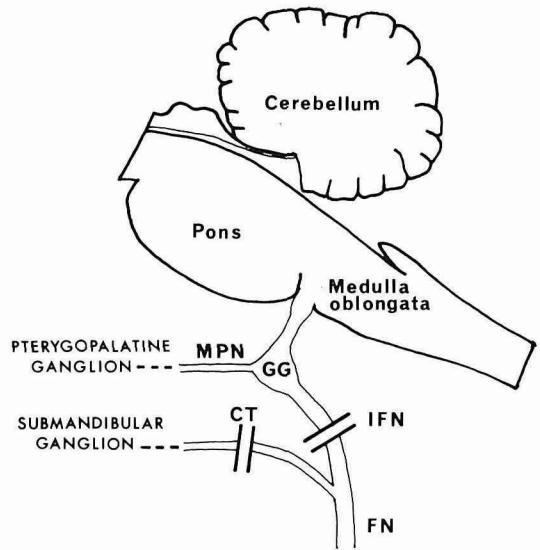
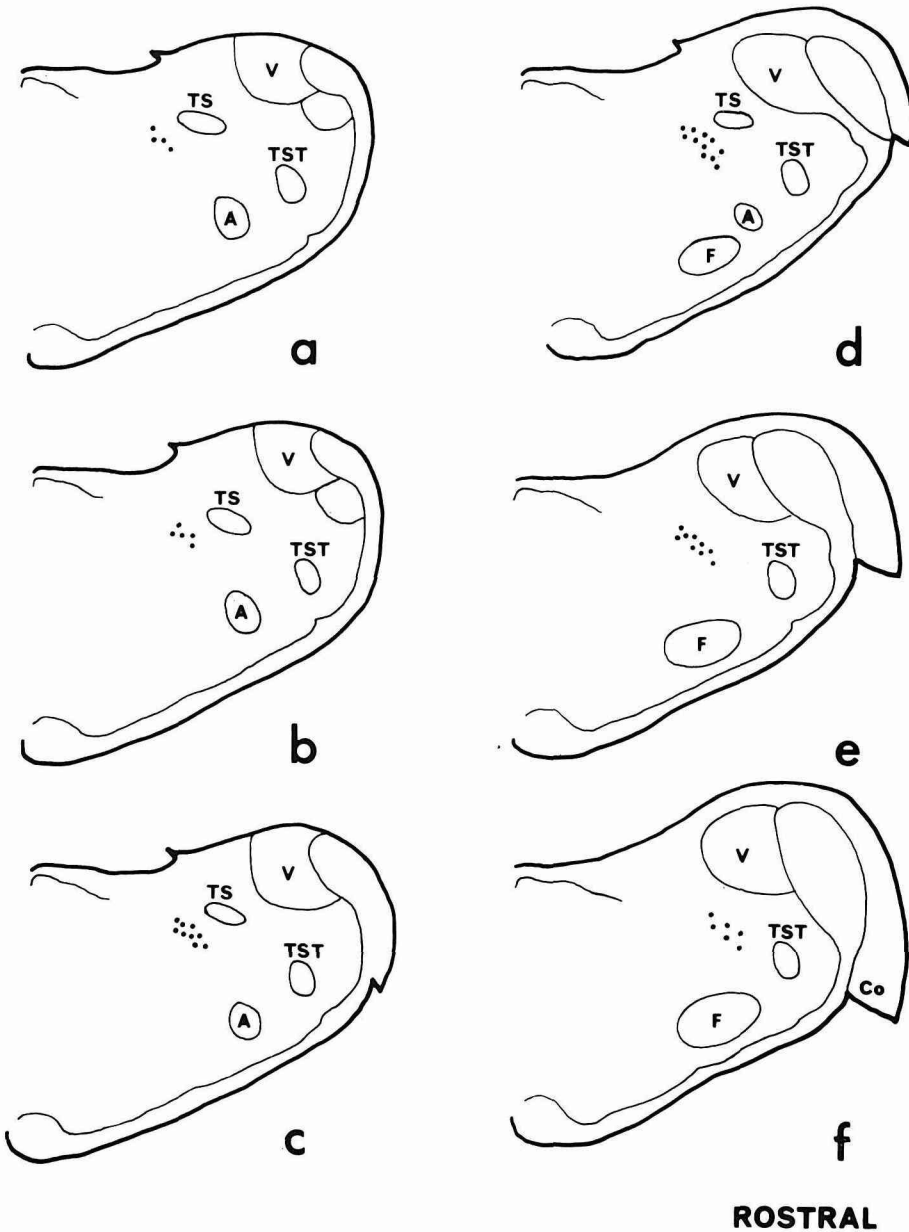


Fig. 1 Diagram showing the site of HRP bathing of either the transected intermediifacial nerve or the chorda tympani. CT, chorda tympani; FN, motor root of the facial nerve; GG, geniculate ganglion; IFN, intermediifacial nerve; MPN, major petrosal nerve.

#### 3.2 上唾液核の同定

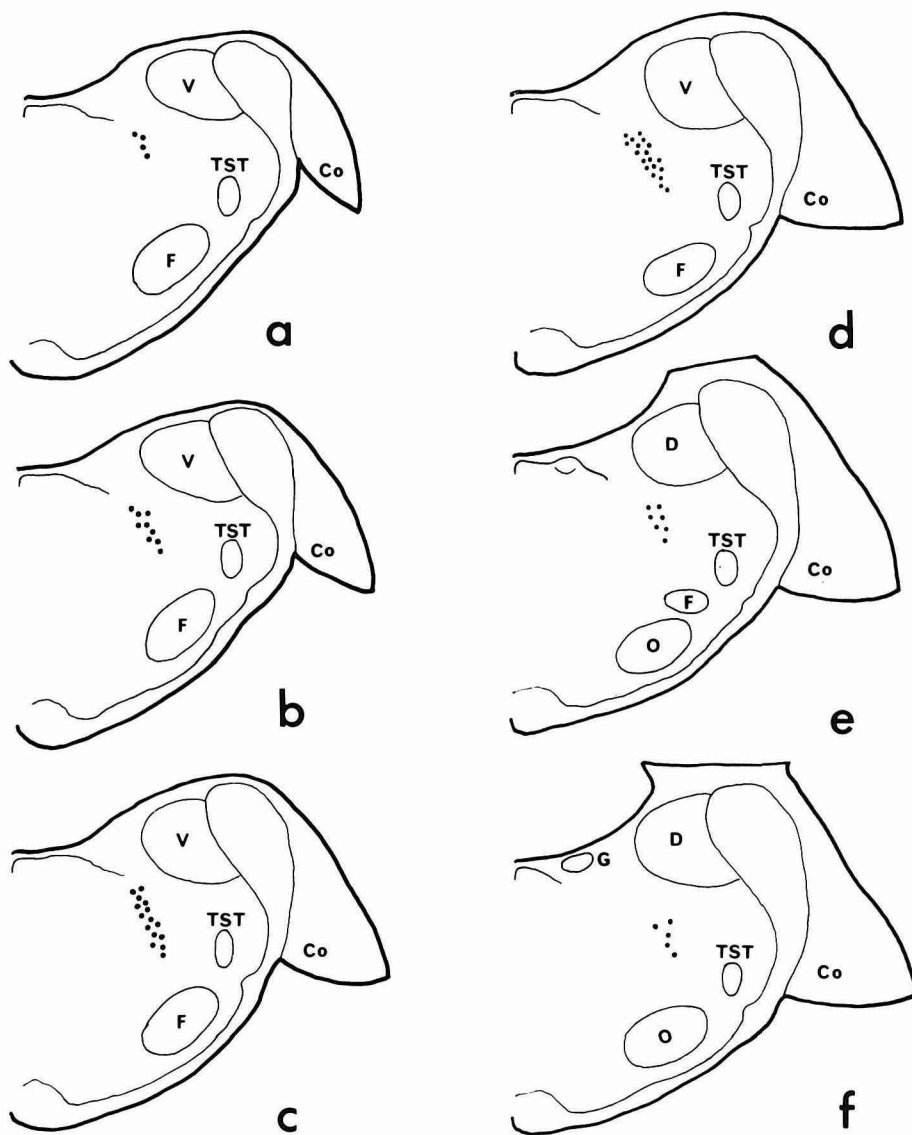
中間顔面神経または鼓索神経に HRP 液を浸した例では (Fig. 1), HRP 陽性細胞は腹側蝸牛神経核の尾側端のレベルから顔面神経膝のレベルまでにわたり網様体背側部に認められた (Fig. 3)。この上唾液核の最尾側のレベルは下唾液核のほぼ最吻側のレベルに相当する。これらの陽性細胞は中等大で、樹状突起の発達した直径約 15~25  $\mu\text{m}$  のニッスル染色に濃染する多極神経細胞群として認められた (Fig. 5 A)。

中間顔面神経に HRP 液を浸した例では、網様体背側部における陽性細胞とともに、顔面神経核 (Fig. 5 B) および副顔面神経核 (Fig. 5 A) においても、反応顆粒を胞体内にもつ陽性細胞が認められた。これらの陽性細胞は樹状突起の発達が著しい多極神経細胞であるが、網様体背側部における陽性細胞よりも大型で、直径は約 25~35  $\mu\text{m}$  である。網様体背側部における陽性細胞は顔面神経核のほぼ最吻側のレベルで最大数となり、副顔面神経核の背外側に集団をなして認められた (Figs. 3 d, 5 A)。これらの陽性細胞は吻側に向かうにしたがい次第に外側に移行し、最吻側のレベル、すなわち上オリブ核および顔面神経膝があらわれるレベルでは、網様体の若干深部に比較的散在して観察された (Fig. 3 f)。

**CAUDAL**

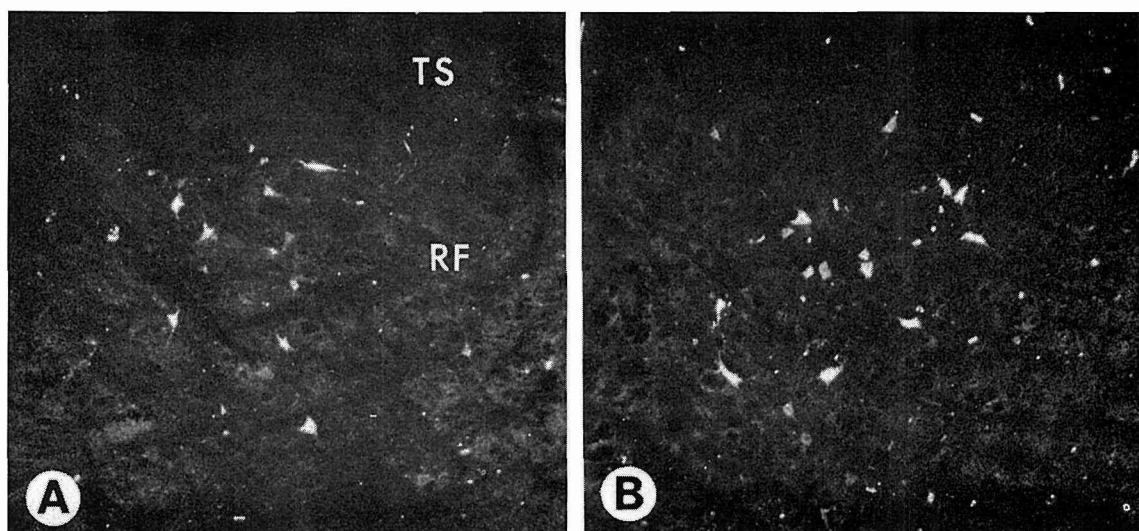
**Fig. 2** The locations of HRP labeled neurons within the reticular formation in the rostral medulla oblongata after HRP bathing of the transected glossopharyngeal nerve. The HRP labeled neurons in each drawing were plotted from one 60  $\mu$ m thick section. A, nucleus ambiguus; Co, ventral cochlear nucleus; F, facial nucleus; TS, tractus solitarius; TST, spinal trigeminal nucleus; V, inferior vestibular nucleus.

## CAUDAL

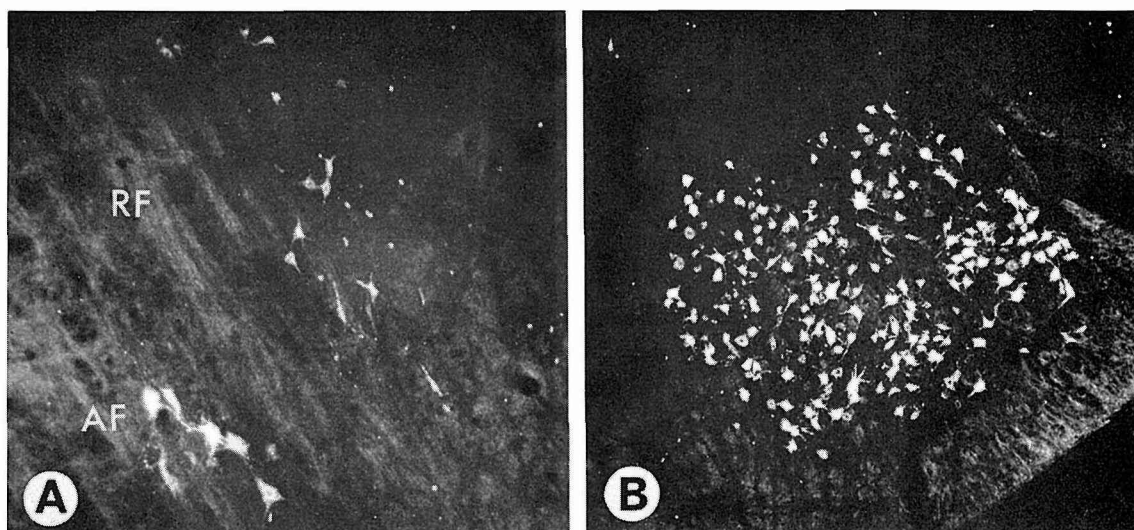


## ROSTRAL

**Fig. 3** The locations of HRP labeled neurons within the reticular formation in the rostral medulla oblongata after HRP bathing of the transected intermediofacial nerve. Co, ventral cochlear nucleus; D, Deiters' nucleus; F, facial nucleus; G, genu of the facial nerve; O, superior olive; TST, spinal trigeminal nucleus; V, inferior vestibular nucleus.



**Fig. 4** Dark-field photomicrographs showing HRP labeled neurons after HRP bathing of the transected glossopharyngeal nerve. A: HRP labeled neurons are located in the dorsal portion of the reticular formation in the rostral medulla oblongata at the level of Fig. 2 d. They are maximum in number at this level. RF, reticular formation; TS, tractus solitarius.  $\times 75$ . B: many HRP labeled neurons are found in the ipsilateral nucleus ambiguus at the level of Fig. 2 a. They are multipolar in type with well-developed dendrites.  $\times 75$ .



**Fig. 5** Dark-field photomicrographs showing HRP labeled neurons after HRP bathing of the transected intermediofacial nerve. A: HRP labeled neurons are located in the dorsal portion of the reticular formation in the rostral medulla oblongata at the level of Fig. 3 d. They are maximum in number at this level. Note the large neurons of the accessory facial nucleus in the lower left corner. AF, accessory facial nucleus; RF, reticular formation.  $\times 75$ . B: many HRP labeled neurons, multipolar in type with well-developed dendrites, are found in the ipsilateral facial nucleus at the level of Fig. 3 a.  $\times 45$ .

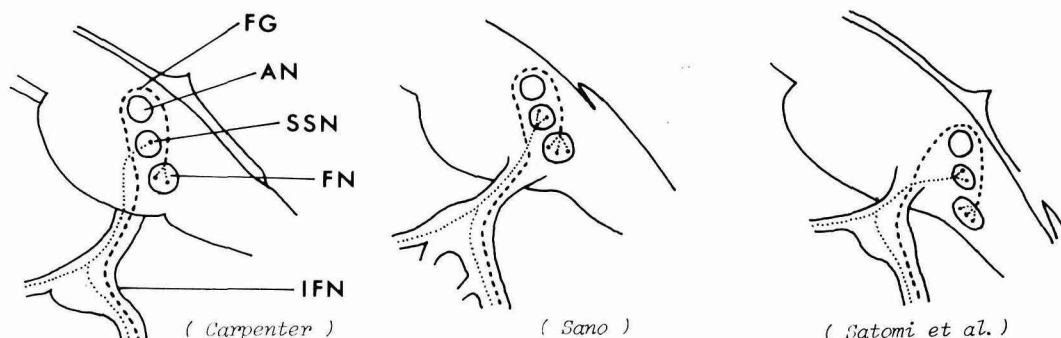


Fig. 6. Schematic drawings showing the location of the superior salivatory nucleus, abducens nucleus and the facial nucleus. Redrawn from Carpenter (1969) and Sano (1974). On the right side, the drawing from our study was presented. AN, abducens nucleus; FG, genu of the facial nerve; FN, facial nucleus; IFN, intermediofacial nerve; SSN, superior salivatory nucleus.

#### 4 考 察

唾液腺の分泌は交感神経と副交感神経の支配を受けるが、副交感神経節前線維の起始は延髄の下唾液核と橋の上唾液核にあると一般的に考えられている<sup>1,2)</sup>。しかしながら脳幹における唾液核の局在に関しては生理学<sup>3,4)</sup>、組織化学<sup>17,18)</sup>の分野からいくつかの報告があるが、解剖学的に唾液核を同定した報告は少ない<sup>7-11)</sup>。また現在の神経解剖学の教科書には唾液核の明確な記載がなく、その正確な局在については不明点が多い。

唾液核の解剖学的検索には古くから逆行性神経細胞変性法が用いられているが、Kohnstamm<sup>7,8)</sup>はイヌを用いて実験し、下唾液核は下オリブ核と疑核の間の延髄網様体があり、上唾液核は顔面神経核のレベルで網様体内に広く分布すると報告している。また Yagita<sup>9)</sup>は同じくイヌを用い、下唾液核は疑核と顔面神経核のレベルで網様体背側部にあると述べている。さらに Yagita and Hayama<sup>10)</sup>はイヌの上唾液核は顔面神経核のレベルで網様体背側部にあると述べ、Torvik<sup>11)</sup>はネコを用いた逆行性神経細胞変性法により、上唾液核は顔面神経核尾側から顔面神経膝のレベルで網様体背側部にあると報告している。さらに電気生理学的検索としては、Magoun and Beaton<sup>3)</sup>がサルを用い、唾液核は延髄の背内側にあり、その吻側は舌下腺、顎下腺の分泌を支配し、尾側は耳下腺の分泌を支配すると述べている。また Wang<sup>4)</sup>はネコを用い、唾液核の細胞は顔面神経膝の内側と延髄網様体の背外側、すなわち三叉神経脊髄路核の内側の二箇所に集団をなし、その吻側が舌下腺、顎下腺を支配し、尾側が耳下腺を支配すると報告している。これに対して、Shute and Lewis<sup>18)</sup>はラットを用いた組織化学的検索により、唾液腺を支配する神経細胞は

網様体には存在せず、顔面神経膝の内側と外側の二つのグループにみられると報告し、Brawn and Howlett<sup>19)</sup>も同じくラットを用いた組織化学的検索によって、上唾液核は顔面神経膝の外側に存在すると報告している。最近 Hiura<sup>20)</sup>はラットを用いた HRP 法により、顎下腺、舌下腺の分泌を支配する神経細胞は網様体の小細胞網様核吻側にあると報告している。

著者らの実験の結果によれば、下唾液核からの副交感神経節前線維を含む舌咽神経に HRP 液を浸した例では、HRP 陽性細胞は迷走神経背側運動核の吻側のレベルから腹側蝸牛神経核の尾側のレベルまでにわたり延髄網様体背側部に認められた。この部位は迷走神経背側運動核の腹外

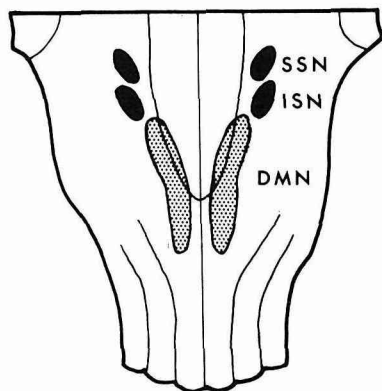


Fig. 7. Schematic drawing showing the locations of the inferior and superior salivatory nuclei in the rostral medulla oblongata. Horizontal projection. DMN, dorsal motor nucleus of the vagus; ISN, inferior salivatory nucleus; SSN, superior salivatory nucleus.



側で、孤束よりも腹内側の部分、すなわち延髄網様体の背側端に位置する。また上唾液核からの副交感神経節前線維を含む中間顔面神経または鼓索神経の各々に HRP 液を浸した例では、HRP 陽性細胞は腹側蝸牛神経核の尾側のレベルから顔面神経膝のレベルまでにわたり網様体背側部に認められたが、上唾液核の尾側端は下唾液核のほぼ最吻側のレベルに相当していた。

以上の結果より、上唾液核および下唾液核の局在をあわせて考えると、両者ともその位置は延髄網様体であり、従来の多くの神経解剖学の教科書<sup>1,2)</sup>にある図 (Fig. 6) や核の所在についての記載、すなわち上唾液核が橋にあるという点は否定される。また、下唾液核の吻側端と上唾液核の尾側端とはほぼ同じレベルにあり、Fig. 7 に示すごとく、前者は後者よりもやや外側に位置している。すなわち、上、下唾液核は、その隣接部において細胞の多少の混在が認められるとはいえ、おのおのが独立した神経細胞集団として認められるものであり、Magoun and Beaton<sup>3)</sup> や Wang<sup>4)</sup> が図に示しているような一続きの細胞集団ではない。さらに上、下唾液核を構成する神経細胞は、直径が約 15~25  $\mu\text{m}$  の、ニッスル染色に濃染する多極神経細胞であることが明らかとなった。

## 5 結 語

HRP 法を用いて、唾液腺の分泌を支配する副交感神経節前線維の起始である上、下唾液核の同定を行なった。

下唾液核は迷走神経背側運動核の吻側端のレベルで、その腹外側部すなわち網様体背側部に始まり、吻側に向かうにしたがい外側に移行し、その吻側端は腹側蝸牛神経核の尾側のレベルである。また上唾液核は腹側蝸牛神経核の最尾側のレベル、すなわち下唾液核のほぼ吻側端のレベルで網様体背側部に始まり、吻側に向いやや外側に移行し、その最吻側は上オリブ核や顔面神経膝のあらわれるレベルである。

以上の結果より、上、下唾液核ともその局在は延髄網様体であり、上唾液核が橋に存在するという従来の記載は否定された。またこれらの唾液核を構成する神経細胞は中等大で、ニッスル染色に濃染する多極神経細胞からなっていることが確認された。

## 文 献

1. Carpenter, M. B.: Human neuroanatomy. 312-348, 7th ed., Williams & Wilkins, Baltimore (1969).
2. 佐野 豊: 神経解剖学. 160-183, 初版, 南山堂, 東京 (1974).
3. Magoun, H. W. and Beaton, L. E.: The salivatory motor nuclei in the monkey. *Amer. J. Physiol.* **136**, 720-725 (1942).
4. Wang, S. C.: Localization of the salivatory center in the medulla of the cat. *J. Neurophysiol.* **6**, 195-202 (1943).
5. Emmelin, N.: On the innervation of the submaxillary gland cells in cats. *Acta Physiol. Scand.* **34**, 11-21 (1955).
6. Fritz, M. E. and Botelho, S. Y.: Role of autonomic nerve impulses in secretion by the parotid gland of the cat. *Amer. J. Physiol.* **216**, 1392-1398 (1969).
7. Kohnstamm, O.: Der Nucleus salivatorius inferior und das cranio-viscerale System. *Neurol. Zbl.* **22**, 699 (1903).
8. Kohnstamm, O.: Der Nucleus salivatorius chorda tympani (nervi intermedi). *Anat. Anz.* **21**, 362-363 (1902).
9. Yagita, K.: Weitere Untersuchungen über das Speichelzentrum. *Anat. Anz.* **35**, 70-75 (1909).
10. Yagita, K. and Hayama, S.: Über das Speichelsekretionszentrum. *Neurol. Zbl.* **28**, 738-753 (1909).
11. Torvik, A.: Die Lokalisation des „Speichelzentrums“ bei der Katze. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **63**, 317-326 (1957).
12. Ellison, J. P. and Clark, G. M.: Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in peripheral autonomic nerves. *J. Comp. Neurol.* **161**, 103-114 (1975).
13. Satomi, H., Yamamoto, T., Ise, H. and Takahashi, K.: Identification of the inferior salivatory nucleus in the cat as studied by HRP bathings of the transected glossopharyngeal nerve root. *Neurosci. Lett.* **11**, 259-263 (1979).
14. Satomi, H., Takahashi, K., Ise, H. and Yamamoto, T.: Identification of the superior salivatory nucleus in the cat as studied by the HRP method. *Neurosci. Lett.* in press.
15. Takahashi, K., Satomi, H., Ise, H. and Yamamoto, T.: A method of HRP bathing of transected peripheral nerve using a rubber bag. —Its technique and advantage— *Anat. Anz.* in press.
16. Graham, R. C. and Karnovsky, M. J.: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 291-302 (1966).

17. Mesulam, M. -M.: The blue reaction product in the horseradish peroxidase neurohistochemistry: incubation parameters and visibility. *J. Histochem. Cytochem.* **24**, 1273-1280 (1976).
18. Shute, C. C. D. and Lewis, P. R.: The salivatory center in the rat. *J. Anat. (Lond.)* **94**, 59-73 (1960).
19. Brown, J. C. and Howlett, B.: The facial flow and the superior salivatory nucleus: An histochemical study in the cat. *J. Comp. Neurol.* **134**, 175-192 (1968).
20. Hiura, T.: Salivatory neurons innervate the submandibular and sublingual glands in the rat: horseradish peroxidase study. *Brain Res.* **137**, 145-149 (1977).